

Cardiac troponins

Citation for published version (APA):

van der Linden, N. (2018). *Cardiac troponins: State of the (He)Art; towards optimization of interpretation*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20180119nvdI>

Document status and date:

Published: 01/01/2018

DOI:

[10.26481/dis.20180119nvdI](https://doi.org/10.26481/dis.20180119nvdI)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Cardiac troponins, cardiac troponin T (cTnT) and cardiac troponin I (cTnI), are the biochemical cornerstones in the diagnosis of acute myocardial infarction without characteristic changes on the electrocardiogram (ECG). The recent introduction of the high-sensitivity cardiac troponin assays was at the basis of the increasingly accurate and rapid clinical decision making in patients with acute chest pain. Nevertheless, the increased sensitivity of the recent assays has not only expedited diagnosis of acute myocardial infarction, but also resulted in the detection of, previously undetectable, low cardiac troponin concentrations in subjects without acute myocardial infarction. The aim of this thesis is to increase our understanding of basal cardiac troponin levels in non-acute conditions, their impact on the diagnostics of acute myocardial infarction, and how these aspects can be used to improve the interpretation of cardiac troponins levels.

Chapter 1 provides a general introduction on cardiac troponins and the diagnosis of acute myocardial infarction. Furthermore, it describes the prevalence and prognostic value of persistently elevated cardiac troponin concentrations.

Chapter 2 illustrates the impact of chronically elevated cardiac troponin concentrations with a case. This case highlights four aspects that are discussed in this thesis (discussed in the following chapters): First, the variation in cardiac troponin concentrations over the day (*chapters 3 and 4*). Second, the effect of impaired renal function on cardiac troponin levels (*chapters 5 and 6*). Third, the differences between cTnT and cTnI (*chapters 7 and 8*). Fourth, persistently elevated basal cardiac troponin concentrations and their clinical significance (*chapters 9, 10 and 11*).

Since increased cardiac troponin concentrations are not specific for the presence of an acute myocardial infarction, serial measurement of cardiac troponins is of profound importance in diagnostics. An important assumption for the interpretation of these serial cardiac troponin concentrations is the random variation of concentrations in clinically stable conditions. In *chapters 3 and 4*, we demonstrate that this assumption holds true for cTnI, but not for cTnT. Specifically, in *chapter 3*, which contains the results of a biological variation study with hourly sampling during day and night in 24 patients without chronic kidney disease, we show an

omnipresent diurnal rhythm in cTnT. This rhythm is characterized by gradually decreasing concentrations during the day and increasing concentrations of cTnT during night-time. Since the diurnal pattern in cTnT concentrations may cause increases or decreases in serial measurements to be more likely in certain timeframes, we additionally evaluated the effect of time on the diagnostic accuracy in an international multicenter diagnostic trial (2782 patients with acute chest pain). This evaluation shows a very high and time-frame independent diagnostic accuracy of cTnT for the diagnosis of acute myocardial infarction. Nevertheless, in early presenters (≤ 3 h after the onset of chest pain) the effect of the timeframe seems to be more pronounced and leads to a borderline significant decrease in diagnostic accuracy for cTnT concentrations at one hour after presentation and for the combination of cTnT concentration at presentation combined with the absolute change within the first hour. Therefore, the diurnal rhythm may provide an explanation in cases where the clinical assessment is discordant with the biochemical kinetics. In addition, this chapter shows random variation in cTnI levels over the day without an effect on the diagnostic accuracy of cTnI. Moreover, *chapter 4* focuses on the variation in cTnI levels during day and night. In addition to the population described in *chapter 3*, we included 20 subjects with chronic kidney disease. Their baseline cTnI levels were slightly higher and accompanied by a significant lower analytical coefficient of variation compared to the subjects without chronic kidney disease. Nevertheless, we observed a similar random variation in cTnI levels over the day in both groups.

Persistently elevated cardiac troponin concentrations are highly prevalent among subjects with impaired renal function. A better understanding and interpretation of these elevations, requires more insight in the underlying mechanism: Is it the heart, by increased release, or the kidneys, by decreased renal elimination? *Chapters 5 and 6* consider the role of the kidneys in the terminal elimination of cTnT from the circulation. *Chapter 5* builds upon the previous chapters and employs the diurnal oscillation pattern of cTnT as a model to assess the contribution of impaired renal elimination to persistently elevated cTnT levels in patients with chronic kidney disease. Mathematically modeling shows that impaired elimination of cTnT should lead to a faded circadian rhythm characterized by a substantial

decrease in amplitude. Nevertheless, the pattern and the amplitude of the circadian rhythm in cTnT is similar in subjects with or without chronic kidney disease. These observations strongly suggest that other factors, such as increased release of cardiac troponins from the heart due to (subclinical) myocardial injury, are responsible for persistently elevated cardiac troponin levels in subjects with decreased renal function. Whereas the previous chapter focuses on the elimination of cTnT in a chronic setting, *chapter 6* examines the elimination of cTnT in patients suffering from acute myocardial infarction. We are the first to develop and validate a targeted mass spectrometry assay for the detection of cTnT (fragments) in urine. Subsequently, we show the presence of cTnT fragments in a subset of patients. Nevertheless, whether the presence of cTnT in urine reflects a physiological or rather a pathophysiological process needs to be elucidated.

cTnT and cTnI are both proteins from the same complex inside the cardiomyocytes and are equally recommended for the diagnosis of acute myocardial infarction. Although there are some clear differences between both cardiac troponins, which are further highlighted in *chapters 7 and 8*. In *chapter 7*, we show a substantial variation in cTnT concentrations in both serum and plasma of different individuals after the addition of a standardized amount of cardiac troponin. This evident variation is not present for other cardiac biomarkers (cTnI, creatine kinase MB isoenzyme and myoglobine) and disappears when the experiment is replicated in deproteinated serum. These findings indicate the presence of one or more factors that have specific interaction with cTnT and not with cTnI. Additional studies have to elucidate whether this effect can also be found *in vivo* and what its exact clinical implications are. *Chapter 8* examines the clinical impact of the use of the different cardiac troponins for the diagnosis of acute myocardial infarction and evaluates whether combining them might overcome individual limitations. When applying the current 0-hour/1-hour algorithm for cTnT or for cTnI in an international multicenter center diagnostic trial (2225 patients with acute chest pain), the agreement on the early diagnosis of acute myocardial infarction is moderate and the rule-out of patients without an acute myocardial infarction at presentation is limited. The combination of cTnT and cTnI for the rule-out of acute myocardial infarction leads to a significant increase in the number of safe rule-outs after a single blood draw. These

results are supported by the validation of combination strategies in an external cohort (2539 patients). Nevertheless, some limitations of this strategies merit attention: First, the 3-to-6-fold increase in rule-outs at presentation due to combining cTnT and cTnI seems to lead to a very small, but inevitable increase in the absolute number of false-negative results. Second, the clinical implementation of this dual-marker approach would currently be associated with substantial logistic obstacles.

The final part of this thesis reflects on persistently elevated cardiac troponin concentrations that are common in various subpopulations and associated with an unfavorable prognosis. *Chapters 9 and 10* explore the effects of exercise training, a preventive lifestyle intervention, on the course of basal cardiac troponin levels. In *chapter 9*, we analyze the effects of a 24-week resistance-type exercise training program on the cTnT levels of (pre)frail elderly. There is no significant difference in the course of cTnT levels between the intervention (25 subjects) and the control group (27 subjects). A limitation of this study might be the limited (absolute) training load due to the frailty of the subjects. Furthermore, the effect on cTnI concentrations is unclear. To overcome these limitations, *chapter 10* presents two additional exercise training studies (including 13 and 39 subjects) and an additional analysis of cardiac cTnI in the previous study. Despite the beneficial changes in metabolic profile and physical performance, there is also no effect on circulating cardiac troponins levels in these studies. To quantify the relationship between basal cardiac troponin levels and prognosis in the general population, we perform a meta-analysis in *Chapter 11*. This meta-analysis with data on 65019 participants from 11 cohort studies shows a robust association of basal cardiac troponin levels with all-cause and cardiovascular mortality during follow-up in the general population.

Lastly, *chapter 12*, contains a general discussion of the work presented in this thesis and provides directions for future research.

Samenvatting

Cardiale troponines, cardiaal troponine T (cTnT) en cardiaal troponine I (cTnI), zijn de biochemische pijlers in de diagnostiek van een acuut myocardinfarct in afwezigheid van kenmerkende veranderingen op het elektrocardiogram (ECG). Door de recent geïntroduceerde hoog-sensitieve cardiale troponinetesten, kunnen infarcten steeds accurater en sneller worden gediagnosticeerd bij patiënten die zich melden met pijn op de borst. De hoge sensitiviteit zorgt er echter ook voor dat er regelmatig (licht) verhoogde concentraties worden gevonden bij personen die geen acuut myocardinfarct hebben. Het doel van dit proefschrift is om deze niet-acute verhogingen verder in kaart te brengen, te bestuderen hoe zij kunnen interfereren met de diagnostiek en uiteindelijk te onderzoeken of deze kennis ons kan helpen om cardiale troponineconcentraties beter te interpreteren.

Hoofdstuk 1 vormt de introductie van dit proefschrift. Het geeft een korte beschrijving van de diagnostiek van het acute myocardinfarct en de rol die cardiale troponines hierin spelen. Daarnaast worden in dit hoofdstuk chronische troponineverhogingen en hun prognostische implicaties besproken.

Hoofdstuk 2 illustreert de impact van chronisch verhoogde cardiale troponines aan de hand van een casus. In deze casus komen vier aspecten aan de orde die verder in dit proefschrift aan bod komen: Ten eerste, de schommelingen in cardiale troponineconcentraties over de dag (*hoofdstuk 3 en 4*). Ten tweede, de mogelijke effecten van de nieren op cardiale troponines (*hoofdstuk 5 en 6*). Ten derde, de verschillen tussen cTnT en cTnI (*hoofdstuk 7 en 8*). Ten vierde, de prognostische betekenis van chronische verhoogde cardiale troponineconcentraties (*hoofdstuk 9, 10 en 11*).

Omdat verhoogde cardiale troponineconcentraties niet specifiek zijn voor de aanwezigheid van een acuut myocardinfarct, is het serieel meten van licht verhoogde cardiale troponineconcentraties van belang bij de diagnostiek. Een belangrijke aanname bij de interpretatie van seriële waarden is dat de concentraties onder normale omstandigheden (dus in de afwezigheid van een infarct) willekeurig schommelen over de dag. In *hoofdstuk 3 en 4* laten we zien dat deze aanname klopt voor cTnI, maar niet voor cTnT. *Hoofdstuk 3* rapporteert de resultaten van een biologische variatie studie waarbij gedurende een etmaal bij 24 proefpersonen ieder uur bloed is afgenomen. Hierbij vertonen alle proefpersonen een

duidelijk dag-nacht ritme in cTnT: Over de dag neemt de concentratie cTnT in het bloed langzaam af en gedurende de nacht neemt deze weer toe. Het dag-nacht ritme zou ertoe kunnen leiden dat (grote) verschillen in serieel gemeten waarden op sommige tijdstippen waarschijnlijker zijn dan op andere tijdstippen en dat hiermee het vermogen om onderscheid te maken tussen wel of geen infarct tijdsafhankelijk is. Daarom hebben we in dit hoofdstuk tevens gekeken of het diagnostische vermogen van cardiale troponines afhankelijk is van het moment van de dag. Dit hebben we gedaan in een internationale diagnostische multicenter studie (2782 patiënten met acute pijn op de borst). Uit deze analyse blijkt dat het vermogen van cTnT om patiënten met en zonder een infarct te onderscheiden hoog is, en niet lijkt te worden gestoord door het dag-nacht ritme. Echter, in de groep die zich vroeg presenteert (≤ 3 uur na het ontstaan van pijn op de borst) zien we dat het diagnostisch vermogen van cTnT beter lijkt in de avonduren (dit verschil is significant wanneer alleen gekeken wordt naar de concentratie na een uur of naar het verschil in seriële metingen en bijna significant als dit wordt gecombineerd met de meting bij presentatie). Dit zou mogelijk kunnen verklaren waarom bij sommige patiënten de klinische presentatie niet overeenkomt met het beeld in de laboratoriumuitslag. Daarnaast laat dit hoofdstuk zien dat cTnI concentraties wél random fluctueren gedurende de dag en het moment waarop de patiënt zich presenteert geen effect heeft op het diagnostisch vermogen van de test. In aanvulling hierop focust *hoofdstuk 4* zich volledig op de variatie in cTnI concentraties gedurende de dag en de nacht. Hiertoe zijn 20 proefpersonen met een chronische nierziekte toegevoegd aan de populatie zoals deze beschreven is in *hoofdstuk 3*. De beginconcentraties van cTnI waren significant hoger in deze tweede groep, hetgeen gepaard ging met een lagere analytische variatie. Ondanks dit verschil zien we in beide groepen een even grote, random spreiding van cTnI levels over de dag.

Individen met een verminderde nierfunctie hebben relatief vaak chronisch verhoogde cardiale troponineconcentraties in hun bloed. Het onderliggende mechanisme voor deze verhogingen is echter nog onopgehelderd. De centrale vraag hierbij is: Komt het door de nieren (doordat zij minder cardiale troponines verwijderen uit het bloed) of komt het door het hart (doordat het meer cardiale troponines afgeeft aan het bloed)? In *hoofdstuk 5 en 6* hebben we gekeken naar de rol die de nieren spelen bij het verwijderen van cardiale

troponines. *Hoofdstuk 5* is een vervolg op de voorgaande hoofdstukken en gebruikt het ritme in cTnT om de mate waarin de nieren verantwoordelijk zijn voor de basaal verhoogde troponineconcentraties te onderzoeken. We hebben hierbij allereerst aan de hand van een mathematisch model laten zien dat als er minder cTnT uit het bloed wordt verwijderd bij patiënten met een verminderde nierfunctie, het ritme in cTnT over de dag zal afnemen. Als we echter naar de ritmes in cTnT in de individuen met en in de individuen zonder nierfalen kijken, dan zien we dat het ritme hetzelfde is (ook qua sterkte). Deze bevindingen suggereren dat niet een verminderde uitscheiding door de nieren, maar andere factoren, zoals een verhoogd vrijkomen van cardiale troponines als het resultaat subklinische hartschade, de drijvende krachten zijn achter de troponine verhogingen in individuen met een verminderde nierfunctie. In tegenstelling tot het vorige hoofdstuk richt *hoofdstuk 6* zich op de rol van de nieren in de acute setting. In dit hoofdstuk hebben we een methodiek ontworpen en gevalideerd om cTnT middels massaspectrometrie te meten in urine. Vervolgens hebben we hiermee de aanwezigheid van cTnT fragmenten in de urine van een aantal patiënten met een acuut myocardiinfarct aangetoond. Het is echter niet duidelijk of de aanwezigheid van troponine in urine een 'normaal', fysiologisch proces is (dat door de lage concentraties niet in ieder monster gemeten kan worden) of dat dit het gevolg is van overloopproteïnurie en enkel bij heel hoge troponineconcentraties in het bloed kan worden gemeten.

cTnT en cTnI zijn twee eiwitten die afkomstig zijn vanuit een gemeenschappelijk eiwitcomplex in de hartspiercel en worden gezien als diagnostische equivalenten (dit wil zeggen; in de huidige richtlijnen worden zij als gelijkwaardige biomarkers gezien). Er zijn echter ook verschillen tussen beide troponines. In *hoofdstuk 7 en 8* wordt hier verder bij stilgestaan. In *hoofdstuk 7* laten we grote verschillen in de gemeten concentraties cTnT zien als aan het serum of plasma van verschillende individuen dezelfde hoeveelheid cardiaal troponine wordt toegevoegd. Dit is niet het geval voor de andere cardiale biomarkers (cTnI, creatine kinase MB en myoglobine) of als we het serum eerst eiwit-vrij maken. Het lijkt erop dat er één of meerdere factoren in min of meerdere mate aanwezig zijn in het serum en plasma van verschillende individuen en dat deze factoren wel een effect hebben op cTnT, maar niet op cTnI. Vervolgstudies zullen moeten aantonen of dit effect ook in vivo aanwezig is en wat hiervan de klinische implicaties zijn. *Hoofdstuk 8* bestudeert welke impact de keuze

voor het testen van cTnT of cTnI kan hebben en bekijkt of het wellicht beter is om deze testen te combineren. In een internationale multicenter cohortstudie (2225 patiënten met acute pijn op de borst) is de overeenkomst in vroege diagnostiek van het acute myocardinfarct matig als cTnT en cTnI worden vergeleken. Hierbij valt eveneens op dat slechts bij een klein deel van alle patiënten dat geen infarct heeft, een infarct direct na één bloedafname op het moment van presentatie kan worden uitgesloten. Door het combineren van de beide cardiale troponinetesten neemt het aantal patiënten waarbij direct na één bloedafname veilig een infarct kan worden uitgesloten significant toe. Hetzelfde beeld zien we terug als deze combinatiestrategie wordt toegepast in een extern validatie cohort (2539 patiënten met acute pijn op de borst). Kanttekeningen bij deze combinatiestrategieën zijn: 1) de kleine toename in het absolute aantal vals-negatieven (patiënten die voor rule-out in aanmerking komen, maar toch een acuut myocardinfarct blijken te hebben) ten gevolge van een 3-tot-6-voudige toename in het aantal vroege rule-outs, en 2) het feit dat het meten van twee verschillende cardiale troponines op dit moment in veel ziekenhuizen nog niet mogelijk is vanwege de logistiek.

Het laatste deel van dit proefschrift richt zich op prognostische betekenis van chronische cardiale troponine verhogingen. *Hoofdstuk 9 en 10* onderzoeken het effect van levensstijlinterventies, in de vorm van trainingsprogramma's, op cardiale troponineconcentraties over de tijd. In *hoofdstuk 9* hebben we gekeken naar het effect van een 24-weeks krachtttrainingsprogramma op cTnT concentraties in (pre)fragiele ouderen. Hierbij hebben wij geen verschil kunnen aantonen tussen groep die wel (25 deelnemers) en de groep die geen trainingsprogramma heeft gevolgd (27 deelnemers). Een mogelijke limitatie van deze studie was de beperkte belastbaarheid van de (pre)fragiele deelnemers. Daarnaast laat deze studie in het midden of er mogelijke effecten op cTnI zijn. In *hoofdstuk 10* hebben we, rekening houdend met de beperkingen van de vorige studie, de studie uit *hoofdstuk 9* verder uitgebreid. Hiertoe hebben we twee extra trainingsstudies toegevoegd (met respectievelijk 13 en 39 deelnemers) en hebben we in alle studies ook cTnI bekeken. Ondanks duidelijke verbeteringen op metabole en fysieke parameters, zagen we ook in deze studie geen effect op cardiale troponineconcentraties. Ten slotte, hebben we in *hoofdstuk 11* middels een meta-analyse de relatie tussen basale cardiale troponine levels en het risico

op vroegtijdige overlijden van mensen in de algemene populatie gekwantificeerd. De uitgevoerde meta-analyse bevat data van 11 cohort studies (in totaal 65019 deelnemers) en laat zien dat verhoogde basale cardiale troponineconcentraties samenhangen met een grotere kans op vroegtijdig overlijden.

Tot slot bevat *hoofdstuk 12* een algemene discussie over het in dit proefschrift beschreven werk en worden suggesties voor vervolgonderzoek aangedragen.